



MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

N° 860.717

Classif. Internat.: C 07 C / A 61 K

Mis en lecture le:

01-03-1978

Le Ministre des Affaires Économiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;*

*Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle;*

*Vu le procès-verbal dressé le 10 novembre 1977 à 14 h. 55*

*au Service de la Propriété industrielle;*

## ARRÊTE :

Article 1. — Il est délivré à la Sté dite : FERRING AB,  
Soldattorpsvägen 5, S - 216 13 Malmö, (Suède),

repr. par Bugnion S.A. à Bruxelles,

un brevet de perfectionnement pour : Désamino-asparagine<sup>4</sup> - D - Arginine<sup>8</sup> -  
vasopressine antidiurétique, et procédé pour sa préparation,  
(Inv. : Jan Mulder et Lars Carlsson),

breveté en sa faveur le 24 mai 1977 sous le n° 854.968;  
perfectionnement qu'elle déclare avoir fait l'objet d'une demande de  
brevet déposée en Suède le 12 novembre 1976, n° 7612667-1.

Article 2. — Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et  
périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit  
de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention  
(mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui  
de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 30 novembre 1977.

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE:

Le Directeur

A. SCHURMANS

BEST AVAILABLE COPY

T. 38-D

Imp. MINICOMBEL 22.F.2.76

880717

Mémoire descriptif déposé à l'appui de la demande de brevet de perfectionnement pour :

DESAMINO-ASPARAGINE<sup>4</sup> - D - ARGININE<sup>8</sup> - VASOPRESSINE ANTI-DIURETIQUE, ET PROCEDE POUR SA PREPARATION

formée par, la société dite :  
FERRING AB, Soldattorpsvägen 5  
S - 216 13 MALMÖ (Suède)

Brevet principal : n° 854.968 du 24 mai 1977

Priorité : 12 novembre 1976, Suède n° 7612667-1

Inventeurs : Monsieur Jan MULDER  
Monsieur Lars CARLSSON

=====

A17.12B.18/2771611

#

$\text{Mep-Tyr-Phe-A-B-Cys-Pro-D-Arg-Gly-NH}_2$ 
  
1      2      3      4      5      6      7      8      9

dans laquelle Nep est un résidu 2-mercaptopropionyle ( $-S-CH_2CH_2CO-$ ), dans laquelle A et B sont de la glutamine (Gln) ou de l'asparagine (Asn), A n'étant de la Gln que si B est de la Gln, et dans laquelle la D-arginine occupe la position 8.

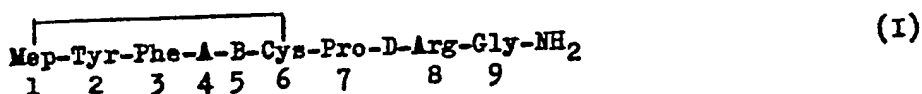
La durée de l'activité antidiurétique de la vasopressine dépend de la vitesse de la décomposition enzymatique du peptide intact. Les modifications de structure du peptide qui réduisent la vitesse de décomposition enzymatique tout en maintenant l'activité biologique sont hautement désirables, en particulier si l'effet thérapeutique résultant est accru et prolongé. Le remplacement par le Mep de la moitié de cystéine en position 1 et le remplacement par la D-Arg de la L-Arg en position 8 dans l'arginine-vasopressine ont donné la désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine, connue sous l'abréviation DDAVP, qui est un analogue de la vasopressine et qui a un effet antidiurétique prolongé, ainsi qu'un effet fortement réduit sur les muscles lisses du système vasculaire et de l'intestin, comparativement à la vasopressine. Ces deux effets sont estimables dans le traitement du diabète insipide. En ce qui concerne les femmes souffrant de diabète insipide qui désirent être enceintes ou qui le sont, il convient, indépendamment des effets appréciables indiqués plus haut, de tenir compte de l'activité utérotonique. Les dérivés de la vasopressine connus ont une activité utérotonique trop puissante pour être administrés aux femmes enceintes sans risquer de provoquer de fausse couche. Il est par conséquent d'une grande nécessité, dans l'art médical, d'obtenir, pour les femmes enceintes souffrant de diabète insipide, un médicament présentant une activité utérotonique suffisamment faible à la dose thérapeutique.

Etant donné que le diabète insipide est une maladie qui nécessite

un emploi de médicaments constant, c'est-à-dire, pendant la vie durant, le patient risque de présenter, après une période de traitement, une accoutumance au médicament ou une hypersensibilité à celui-ci. Pour pouvoir poursuivre le traitement de la maladie, il faut, dans ce cas, utiliser un autre médicament, correspondant, qui n'ait pas pour effet de provoquer chez le patient l'accoutumance ou l'allergie précitée. On n'a toutefois pas, jusqu'ici, disposé de tels médicaments pouvant remplacer la vasopressine et la DDAVP. C'est pourquoi la présente invention vise à combler ce manque, en procurant un dérivé nouveau de la vasopressine qui ait un effet antidiurétique du même ordre de grandeur que les préparations de type connu et qui présente une activité utérotonique considérablement plus faible et, par conséquent, un rapport nettement meilleur antidiurèse / activité utérotonique. Pour être plus précis, on peut dire que l'activité utérotonique de la préparation faisant l'objet de l'invention est inférieure à la dixième puissance à celle des préparations de type connu, ce qui donne un rapport antidiurèse / activité utérotonique qui est supérieur à la dixième puissance, fait qui doit être considéré comme exceptionnel. Les composés faisant l'objet de la présente invention peuvent donc être prescrits aux femmes qui souffrent de diabète insipide et qui désirent être enceintes, et ils peuvent être prescrits à ces femmes pendant toute la durée de la portée, ce qui ouvre à ce groupe de femmes des horizons tout à fait nouveaux.

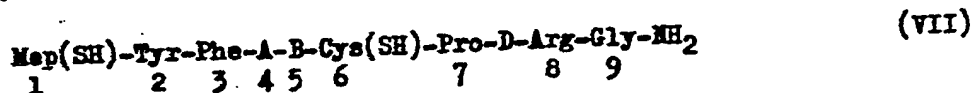
Le brevet principal belge n° 854.968 concerne le dérivé de la vasopressine de la formule (I) dans laquelle A est de l'Asn et B, de l'Asn. Indépendamment de ce qui est connu par le brevet principal précité, on a maintenant trouvé que l'on pouvait utiliser d'autres dérivés de la vasopressine et, de façon plus précise, le perfectionnement qu'apporte la présente invention concerne les dérivés de la vasopressine de la formule (I) dans laquelle A est de l'Asn et B, de la Gln ou dans laquelle A est de la Gln et B, de la Gln.

Selon l'invention, le dérivé de désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine à effet antidiurétique est un dérivé de la formule



dans laquelle Mep est du 2-mercaptopropionyle et dans laquelle A et B sont de la glutamine (Gln) ou de l'asparagine (Asn), A n'étant de la Gln que si B est de la Gln.

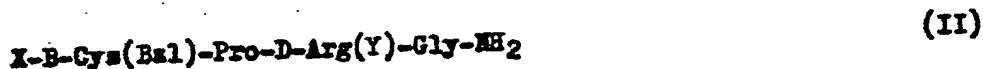
Suivant un autre aspect de la présente invention, on prépare le dérivé de la vasopressine en produisant graduellement, de façon connue en soi, la séquence amino-acide



dans laquelle Mep, A et B sont identiques à ce qui a été indiqué plus haut, et en oxydant ensuite cette séquence amino-acide pour former le dérivé de désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine de formule (I).

Les polypeptides conformes à la présente invention peuvent être utilisés sous la forme de bases libres comme de sels d'acides inorganiques ou d'acides organiques, éventuellement avec addition d'agents auxiliaires, de stabilisateurs et d'additifs de conservation, d'adoucissants, de substances aromatiques, d'agents mouillants, etc., pour la production de formes d'application pour administration parentérale, per os, intranasale, sous-cutanée, intramusculaire et intraveineuse. A titre d'exemples d'acides inorganiques pouvant ainsi être utilisés, on peut citer l'acide chlorhydrique et l'acide phosphorique, et, à titre d'exemples d'acides organiques pouvant ainsi être utilisés, on peut citer l'acide acétique, l'acide citrique et l'acide tartrique. On peut également utiliser des composés à fonction acide, tels que le tannin. Comme produits d'addition conviennent l'amidon, le lactose, les huiles naturelles ou cuites, le talc, la glycérine, etc. Un avantage que présentent les composés nouveaux est leur bonne aptitude à la résorption intranasale. Ceci a pour effet que le patient peut, de façon simple et par un moyen facile, doser et s'administrer le médicament par voie nasale. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de recourir aux seringues d'administration intraveineuse, ce qui serait plus long et plus compliqué.

On prépare les peptides faisant l'objet de la présente invention en utilisant, comme matière de départ, un amide de pentapeptide protégé (II)



formule dans laquelle B est identique à ce qui a été indiqué plus haut, X est un groupe de protection pour le groupe amino (benzyloxycarbonyl), Bal est un groupe de protection pour le groupe mercapto (benzyl) de la cystéine et Y est un groupe de protection pour le guanidine azote (p-toluène sulfonyl). Le groupe de protection X est retiré et le pentapeptide

est couplé à (III)

280717

X-Asn-ONp

(III)

formule dans laquelle A est identique à ce qui a été indiqué plus haut et ONp est un groupe p-nitrophénylester, pour donner l'hexapeptide protégé (IV)

X-A-B-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Y)-Gly-NH<sub>2</sub>

(IV).

Le groupe de protection X du peptide (IV) est retiré et l'hexapeptide est couplé au tripeptide hydrazide (V)

Mep(Bzl)-Tyr-Phe-NHNH<sub>2</sub>

(V)

par le procédé de couplage des azides pour donner l'amide de nonapeptide protégé (VI)

Mep(Bzl)-Tyr-Phe-A-B-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Y)-Gly-NH<sub>2</sub>

(VI).

Le traitement de l'amide de nonapeptide protégé au moyen d'un métal alcalin dans de l'ammoniac liquide sépare les groupes de protection et donne l'amide de nonapeptide réduit (VII)

Mep(SH)-Tyr-Phe-A-B-Cys(SH)-Pro-D-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>  
 1 2 3 4 5 6 7 8 9

(VII)

qui est oxydé dans une solution aqueuse contenant du ferricyanure de potassium à un pH de 6,5 - 7,0 pour donner le peptide cyclique, à action biologique, de la formule générale (I).

Le remplacement des amino-acides de la vasopressine en position 4 et en position 5 comme il est indiqué plus haut, combiné au remplacement du composant de cystéine en position 1 par le Mep et de la L-arginine en position 8 par la D-arginine, donne les peptides (I), qui, outre une bonne aptitude à la résorption intranasale, ont aussi une activité antidiurétique accrue, une activité fortement réduite d'élévation de la pression sanguine, un bon effet prolongé et une activité utérotonique fortement réduite, comparativement à la vasopressine (voir tableau I). Outre l'arginine-vasopressine, en tant que substance de référence, le tableau I contient aussi la BDAVP, ainsi qu'une 4-val-BDAVP analogue comme dans la littérature de l'art (Chemical Abstracts : 80, 347 v (1974)). Comme la courbe pour la dose logarithmique rapportée à la réaction pour la peptide antidiurétique de structure générale (I) n'est pas linéaire, il est difficile d'exprimer une activité conventionnelle

en unités/mg pour les analogues de D-arginine<sup>8</sup> comparativement à la vasopressine. Par conséquent, les valeurs, dans le tableau I, sont exprimées en chiffres d'activité relative, les données pour la DDAVP, en tant que composé de comparaison, étant arbitrairement posées de 1,00.

TABLEAU I

Activité antidiurétique, activité sur la pression sanguine et activité utérotonique des analogues de la DDAVP par rapport à celles de la DDAVP

Peptide	Activité					
	Anti-diurèse	Prolongement	Pression sanguine	Utéro-tonique	Antidiurèse Pression sanguine	Antidiurèse Utérotonique
DDAVP (connu)	1,00	++	1,00	1,00	1,00	1,00
4-Val-DDAVP (connu)	1,44	++	<0,15	0,9	>9,60	1,6
4-Asn-DDAVP (brevet princ.)	1,26	++	0,9	0,09	1,4	14,0
5-Gln-DDAVP	0,45	++	0,18	<0,02	2,5	>23
4-Asn-5-Gln-DDAVP	0,40	++	<0,30	<0,02	>1,3	>20
Arg-vasopressine (connu)	0,10	-	1450	1,0	0,00006	0,1

Il ressort du tableau I que les composés faisant l'objet de l'invention, de même que la 4-Asn-DDAVP, révèlent de bonnes valeurs pour l'antidiurèse, le prolongement d'activité et la pression sanguine, comparativement aux composés connus. De plus, ils révèlent des valeurs considérablement améliorées pour l'activité utérotonique et des valeurs supérieures pour la relation antidiurèse / activité utérotonique. Il s'ensuit que l'on obtient en même temps une bonne valeur pour l'antidiurèse, un effet mineur d'augmentation de la pression sanguine, un bon prolongement d'activité et une activité utérotonique extrêmement faible, ce qui est extrêmement intéressant pour les femmes fécondées souffrant de diabète insipide.

Les dérivés de la désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine peuvent être

L

fabriquées sous forme de préparation thérapeutiques de solution aqueuse ou non aqueuse contenant des sels organiques ou inorganiques, des acides ou des bases, pour administration orale, rectale ou sous-cutanée.

L'invention sera illustrée par les formes de réalisation décrites dans la suite de ce mémoire, pour lesquelles les points suivants sont d'application, à moins qu'il n'en soit autrement spécifié.

On a, dans l'exposé, utilisé les abréviations suivantes :

TLC = chromatographie en couche mince

AAA = composition du composé amino-acide

Cbz = groupe carboxybenzyl

Tos = groupe tosyl (groupe p-toluène-sulfonyl).

Les évaporations sont effectuées par aspiration d'eau et à 35° C, à moins qu'il n'en soit autrement spécifié. Tous les solvants ont qualité de réactifs. On détermine le pH des solutions non aqueuses au moyen de papier de tournesol mouillé.

On détermine l'angle optique de rotation au moyen du polarimètre vendu sous la dénomination " Perkin-Elmer 141 Polarimeter ".

Le chromatogramme en couche mince est réalisé sur du " Merck DC-Fertigplatten Kieselgel 60 " selon le système suivant :

A : butanol / acide acétique / eau	4/1/1
B : butanol / pyridine / acide acétique / eau	15/10/3/6
C : cyclohexane / acétate d'éthyle / méthanol	1/1/1
D : chloroforme / méthanol / acide acétique	10/2/1
E : chloroforme / méthanol / acide acétique / eau	30/20/4/6

Les échantillons pour l'examen de la composition des composés amino-acides sont hydrolysés dans 6 M HCl dans des tubes dans lesquels on a fait le vide et que l'on a scellés, à 110° C, pendant 24 heures.

Les compositions sont obtenues avec une précision de  $\pm 1,2\%$ , au moyen de l'appareil vendu sous la dénomination " JEOL-5AH Automatic Amino Acid Analyser ".

Il convient de souligner que les exemples 5, 6, 11 et 12 concernent en particulier la préparation de la substance de référence suivant le brevet principal.

#### Exemple 1

Cbz-D-Arg(Tos)-Gly-OEt

(1)

On traite une solution à 0° C de Cbz-D-Arg(Tos) (509 g, 1,10 mole), de Gly-OEt.HCl (169 g, 1,21 mole) et de 169 ml (1,21 mole) de triéthylamine, dans 1,81 litre de chloroforme, au moyen d'une solution de



dicyclohexyl-carbodiimide (227 g, 1,10 mole) dans 600 ml de chloroforme, et on laisse séjourner à la température ambiante pendant 24 heures. Le dicyclohexylcarbamide est séparé par filtration et lavé au moyen de trois parties de chloroforme, et on soumet le filtrat et les produits de lavage à évaporation à pression réduite. On dissout le résidu dans 6 litres d'acétate d'éthyle et on le lave au moyen de parties de 1 litre de 0,25 N HCl (6X), de H<sub>2</sub>O (1X), de NaHCO<sub>3</sub> à 5% (3X) et de H<sub>2</sub>O (2X). La solution d'acétate d'éthyle est séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et est soumise à évaporation (pompe à huile), et on obtient 554 g (92%) du dipeptide ester protégé 1.

$[\alpha]_D^{25} + 31^\circ$  (c 3,0, acide acétique 95%)

AAA : Arg, 0,85; Gly, 1,00

TLC : Rf<sup>C</sup>: 0,62, Rf<sup>D</sup>: 0,67

#### Exemple 2

(2)

Cbz-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-OEt

On dissout le dipeptide ester protégé 1 (425 g, 0,77 mole) dans une solution de HBr (478 g) dans de l'acide acétique (2800 ml) en secouant, et on chauffe la solution à 50° C pendant 10 minutes. On verse la solution chaude dans 18 litres d'éther diéthylique en agitant, et on recueille le précipité blanc sur un filtre, on le lave au moyen de parties de 2 litres d'éther diéthylique (8X) et on le sèche sous vide sur du NaOH pendant 5 h. On dissout le précipité dans 1260 ml de chloroforme, on le refroidit à 0° C et on ajoute de la triéthylamine pour obtenir le pH 7,5. On ajoute du Cbz-Pro-ONp (280 g, 0,758 mole) et on maintient la solution à la température ambiante pendant une semaine, en réglant le pH à 7,5 au moyen de triéthylamine dans la mesure où c'est nécessaire. On dilue la solution au moyen de 5 litres de chloroforme et on la lave au moyen de parties de 1 litre de H<sub>2</sub>O (1X), de 1N NH<sub>3</sub> (10X), de H<sub>2</sub>O (1X), de 1N HCl (2X) et de H<sub>2</sub>O (3X). La solution de chloroforme est séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et est soumise à évaporation (pompe à huile) pour donner le tripeptide ester protégé 2 sous la forme d'une matière solide tannante. Le rendement est de 486 g (99%).

$[\alpha]_D^{25} + 23,0^\circ$  (c 1,80, acide acétique 95%)

TLC : Rf<sup>C</sup>: 0,64; Rf<sup>D</sup>: 0,74

*A*

60717

Exemple 3

Cbz-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

(3)

On fait barboter de l'ammoniac redistillé dans une solution du tripeptide ester protégé 2 (210 g, 0,328 mole) dans 6,9 litres de méthanol, pendant 7 h, à la température ambiante. On sépare par évaporation l'ammoniac et le méthanol, et on dissout l'huile dans 400 ml de chloroforme. On ajoute de l'acétate d'éthyle (2500 ml) pour précipiter une huile, que l'on triture avec 3 parties d'un litre d'éther diéthylique en grattant. La matière solide est recueillie sur un filtre et est séchée pour donner 168 g (83%) de l'amide de tripeptide protégé 2.

$[\alpha]_D^{25}$  -22,6° (c 1,09, acide acétique 95%)

AAA : Pro, 1,03; Arg, 0,82; Gly, 1,00

TLC : Rf<sup>C</sup>: 0,37; Rf<sup>D</sup>: 0,47

Exemple 4

Cbz-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

(4)

On traite une boue de l'amide de tripeptide protégé 2 (168 g, 0,273 mole) dans 455 ml d'acide acétique au moyen d'une solution de HBr (240 g) dans de l'acide acétique (700 ml), pendant 1 h, à la température ambiante, et on la verse ensuite dans 9 litres d'éther diéthylique en agitant. On recueille le précipité blanc sur un filtre et on le lave au moyen de 6 litres d'éther diéthylique. Après séchage sous vide sur du NaOH pendant 6 h, on dissout le précipité dans 1070 ml de diméthylformamide et on refroidit la solution à 0° C. On règle la solution au pH 8,0 au moyen de triméthylamine et on ajoute du Cbz-Cys(Bzl)-ONp (128 g, 0,27 mole). Après maintien pendant trois jours à la température ambiante, on sépare par évaporation le diméthylformamide (pompe à huile) et on dissout l'huile obtenue dans 5 litres de chloroforme et la lave au moyen de parties de 1 litre de 1N NH<sub>3</sub> (3X), 1N HCl (1X) et de H<sub>2</sub>O (2X). La solution de chloroforme est séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et concentrée à 500 ml, et on ajoute 1500 ml d'éther diéthylique pour précipiter une huile, que l'on triture avec 2 parties d'un litre d'éther diéthylique. La matière solide est recueillie sur un filtre et séchée pour donner l'amide de tétrapeptide protégé 4. Le rendement est de 194 g (88%).

$[\alpha]_D^{25}$  -15,9° (c 0,91, diméthylformamide)

AAA : Cys(Bzl), 0,81; Pro, 1,02; Arg, 0,79; Gly, 1,00

TLC : Rf<sup>C</sup>: 0,48; Rf<sup>D</sup>: 0,56

000717

Exemple 5

Cbz-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

(5)

On traite une boue de l'amide de tétrapeptide protégé 4 (190 g, 0,235 mole) dans 540 ml d'acide acétique au moyen d'une solution de HBr (380 g) dans de l'acide acétique (1450 ml), pendant 1 h 25, et on la verse dans 9 litres d'éther diéthylique en agitant. On recueille le précipité blanc sur un filtre, on le lave au moyen de 7 litres d'éther diéthylique, on le sèche pendant 5 h sous vide sur du NaOH et on le dissout dans 4,5 litres de méthanol. On ajoute une boue de résine échangeuse d'ions ("IRA-410", OH<sup>-</sup>; couche de 800 ml) dans du méthanol et on agite le mélange pendant 10 min, la résine étant séparée par filtration et étant lavée au moyen de méthanol. Le filtrat et les produits de lavage combinés sont soumis à évaporation pour donner une huile, que l'on dissout dans 800 ml de diméthylformamide. On ajoute du Cbz-Asn-ONp (100 g, 0,259 mole), on règle le pH à 7,5 au moyen de triéthylamine et on laisse séjourner la solution à la température ambiante pendant 4 jours. On concentre la solution à 100 ml (pompe à huile) et on dilue l'huile visqueuse obtenue au moyen de 150 ml de méthanol chaud. L'amide de pentapeptide protégé est précipité par addition de 1 litre d'acétate d'éthyle, est recueilli sur un filtre et est lavé au moyen de 2 litres d'une solution d'acétate d'éthyle et de méthanol (4/1), puis au moyen de 500 ml d'acétate d'éthyle. Le peptide séché 2 pèse 160 g (72%).

$[\alpha]_D^{25} -18,9^\circ$  (c 1,10, diméthylformamide)

AAA : Asp, 0,91; Cys(Bzl), 0,72; Pro, 0,98; Arg, 0,80; Gly, 1,00

TLC : R<sub>f</sub><sup>A</sup>: 0,50; R<sub>f</sub><sup>C</sup>: 0,19; R<sub>f</sub><sup>D</sup>: 0,16

Exemple 6

Cbz-Asn-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

(6)

On dissout l'amide de pentapeptide protégé 5 (923 mg, 1 mmole) dans 10 ml de 2,5 n HBr dans de l'acide acétique. Après maintien pendant 1 h 25 à la température ambiante, le sel d'hydrobromure est précipité au moyen d'éther diéthylique, est séparé par filtration, est lavé sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éther diéthylique et est séché sous vide sur du NaOH. Le précipité est dissous dans 8 ml de diméthylformamide et refroidi à 0° C, et on ajoute du Cbz-Asn-ONp (490 mg, 1,2 mmole) et de la triéthylamine (0,58 ml). Le mélange ayant séjourné pendant 24 h à la température ambiante, on soumet le diméthylformamide à évaporation (pom-

pe à huile), on dissout le résidu au moyen d'éthanol, et la matière solide obtenue est séparée par filtration et lavée au moyen de plusieurs parties d'éthanol. On sèche le précipité sur du P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et on obtient 859 mg (83%) de l'amide d'hexapeptide 6.  
Point de fusion : 185 - 187° C

$[\alpha]_D^{25}$  -18,0 (c 1,0, diméthylformamide)

TLC : Rf<sup>A</sup>: 0,43; Rf<sup>D</sup>: 0,11; Rf<sup>E</sup>: 0,78

#### Exemple 7

Cbz-Tyr(Bzl)-Phe-OMe

(7)

On laisse séjourner pendant 19 heures à la température ambiante un mélange de Cbz-Tyr(Bzl)-ONp (52,6 g, 0,10 mole), de HCl·Phe-OMe (23,6 g, 0,11 mole) et de triéthylamine (15,3 ml, 0,11 mole) dans 170 ml de diméthylformamide. On ajoute de l'éthanol (600 ml) à la solution, et la matière cristalline qui s'est formée après 2 h 5 à 4° C est recueillie sur un filtre et est lavée au moyen d'éthanol (4 x 200 ml) et d'éther diéthylique (2 x 200 ml). Le dipeptide ester protégé 7 pèse 51,8 g (91%) après séchage.  
Point de fusion : 179 - 181° C

$[\alpha]_D^{25}$  -18,7° (c 1,05, diméthylformamide)

TLC : Rf<sup>C</sup>: 0,84; Rf<sup>D</sup>: 0,90

#### Exemple 8

HCl·Tyr-Phe-OMe

(8)

On hydrogène à la pression atmosphérique, pendant 24 heures, à la température ambiante, une suspension de Cbz-Tyr(Bzl)-Phe-OMe (20,4 g, 0,036 mole) et de 1 g de Pd dans 400 ml de méthanol contenant 7,2 ml 5 n HCl (0,036 mole), on ajoute 1 g supplémentaire de Pd et on poursuit l'hydrogénation pendant 10 heures. On sépare le palladium par filtration et on le lave au moyen de méthanol, sur le filtre. On soumet à évaporation le filtrat de méthanol et les produits de lavage combinés et on dilue l'huile obtenue au moyen d'éther diéthylique, puis on laisse séjourner une nuit à 4° C. On recueille le sel d'hydrochlorure cristallin 8 sur un filtre, on le lave au moyen d'éther diéthylique et on le sèche pour obtenir 13,1 g (97%).  
Point de fusion : —

$[\alpha]_D^{25}$  + 2,8° (c 1,0, diméthylformamide)

TLC : Rf<sup>C</sup>: 0,54; Rf<sup>D</sup>: 0,32

880717

Exemple 9

Mep(Bzl)-Tyr-Phe-OMe

(9)

On laisse séjourner pendant 2 jours à la température ambiante une solution à 0° C de HCl-Tyr-Phe-OMe (5,0 g, 13,2 mmole), de Mep(Bzl)-OMe (4,6 g, 13,2 mmole) et de triéthylamine (1,85 ml, 13,2 mmole) dans 40 ml de diméthylformamide. Le diméthylformamide est éliminé sous vide et on dissout le résidu dans 100 ml de chloroforme. On lave la solution de chloroforme au moyen de parties de 25 ml de 1N NH<sub>3</sub> (5X), de 1N HCl (1X) et de H<sub>2</sub>O (2X), on sèche (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et on soumet à évaporation pour obtenir 6,2 g (90%) de 9.

Point de fusion : 135 - 136° C

TLC : Rf<sup>A</sup>: 0,92; Rf<sup>C</sup>: 0,81; Rf<sup>D</sup>: 0,80

Exemple 10

Mep(Bzl)-Tyr-Phe-NHNH<sub>2</sub>

(10)

On laisse séjourner pendant 24 heures à la température ambiante une solution de Mep(Bzl)-Tyr-Phe-OMe (3,0 g, 5,8 mmole) et de NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (1,5 ml, 30 mmole) dans un mélange de 50 ml de méthanol et de 20 ml de diméthylformamide. On recueille l'hydrazide cristallin 10 sur un filtre, on le lave au moyen de 6 parties de méthanol et on sèche sous vide sur du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour obtenir 2,1 g (70%) de 10.

Point de fusion : 246° C

[α]<sub>D</sub> -19,9° (c 1,0, diméthylformamide)

Exemple 11

Mep(Bzl)-Tyr-Phe-Asn-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

(11)

On dissout l'amide d'hexapeptide protégé 6 (518 mg, 0,5 mmole) dans 10 ml 2,5 M HBr dans de l'acide acétique. Après 1 h 5, le sel d'hydrobromure est précipité au moyen d'éther diéthylique, est recueilli sur un filtre et est lavé sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éther diéthylique, puis est séché sous vide sur du NaOH. On dissout le sel dans 5 ml de diméthylformamide, on basifie la solution au pH 8,0 au moyen de triéthylamine et on la refroidit à - 15° C. Cette solution est ajoutée à une solution à - 15° C de l'acide préparé in situ à partir de l'hydrazide 10 (0,55 mmole, 286 mg) avec du nitrite d'isoamyle. Le mélange de réaction est agité à - 15° C pendant 2 h, le pH est réglé à 8,0 au moyen de triéthylamine et le mélange de réaction est maintenu à 4° C pendant 24 h. On concentre la solution à 1 ml sous vide, on la dilue au moyen de 15 ml d'éthanol et, la séparation s'étant

produite à 4° C pendant une nuit, le précipité est filtré sur un filtre, lavé au moyen de plusieurs parties d'éthanol et séché, pour donner 550 mg (79%) de l'amide de nonapeptide protégé 11.

Point de fusion : 203 - 205° C

$[\alpha]_D^{25}$  -26,9° (c 0,5, acide acétique)

TLC :  $R_f^A$  : 0,53;  $R_f^B$  : 0,74

#### Exemple 12

(Asn<sup>4</sup>)-désamino-D-Arg<sup>8</sup>-vasopressine (4-Asn-DDAVP) (12)

On traite de façon intermittente, au moyen de sodium (aspiré dans une pipette à canal fin), une solution de l'amide de nonapeptide 11 (250 mg, 0,18 mmole) dans 200 ml de NH<sub>3</sub> à -40° C, jusqu'à ce qu'une couleur bleue subsiste dans la solution lors du retrait du sodium. La couleur bleue permanente est éliminée après 2 min par addition de 190 mg de chlorure d'ammonium. On sépare l'ammoniac par évaporation dans un faible courant d'azote. On extrait le résidu au moyen de deux parties de 20 ml d'acétate d'éthyle, on le dissout dans 300 ml de H<sub>2</sub>O et on règle le pH de la solution à 6,8 au moyen d'acide acétique. On effectue l'oxydation au pH 6,8 par addition de 3,6 ml 0,1 M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>. Après agitation pendant 10 min, on ajoute une couche de 50 ml de résine échangeuse d'ions IRA 400 (Ac<sup>-</sup>) à la solution jaune, on agite la suspension pendant 30 min et on sépare la résine par filtration. On lave la résine échangeuse d'ions au moyen de plusieurs parties d'eau, et le filtrat et les produits de lavage combinés sont acidifiés au pH 3,9 et lyophilisés.

On dissout 200 mg du produit de lyophilisation dans 10 ml d'acide acétique à 50%, on l'applique à une colonne de 2,5 x 114,5 cm de Sephadex G-15 qui a été équilibré au moyen d'acide acétique à 50%. La vitesse d'écoulement est de 100 ml/h. La pointe, centrée à 240 ml, est recueillie, diluée au moyen d'eau et lyophilisée pour donner 87 mg de peptide désalifié 12.

On dissout 86 mg du peptide désalifié 12 dans 10 ml 0,2 M d'acide acétique et on l'applique à une colonne de 2,5 x 112 cm de Sephadex G-15 qui a été équilibré au moyen de 0,2 M acide acétique. La vitesse d'écoulement est de 100 ml/h. Les fractions correspondant à la pointe unique (centrée à 510 ml, 3,90 V<sub>0</sub>) sont recueillies et lyophilisées pour donner 43,5 mg de 12.

*M*

$[\alpha]_D^{25}$  -53,7 (c 0,2068, acide acétique 1%)

80717

AAA : Tyr, 1,05; Phe, 1,10; Asp, 2,12; Pro, 0,99; Arg, 1,04; Gly, 1,00  
TLC :  $R_f^A$ : 0,21;  $R_f^B$ : 0,51;  $R_f^E$ : 0,36

Tous les symboles sont conformes à ceux de la " IUPAC-IUB  
Commission on Biochemical Nomenclature Symbols for Amino-Acid Deri-  
vatives and Peptides Recommendations (J. Biol. Chem, 247, 977 (1972)).

### Exemple 13

Cbz-Gln-Cys(SBzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub> (13)

On traite une boue de l'amide de tétrapeptide protégé 4 (4,0 g, 4,95 mmoles) dans 15 ml d'acide acétique au moyen d'une solution de HBr (12 g) dans de l'acide acétique (55 ml) pendant 1 h et on la verse ensuite dans 300 ml d'éther diéthylique en agitant. On recueille le précipité blanc sur un filtre, on le lave au moyen de 200 ml d'éther diéthylique, on le sèche pendant 5 h sous vide sur du NaOH et on le dissout dans 125 ml de méthanol. On ajoute une boue de résine échangeuse d'ions ("IRA-420", OH<sup>-</sup>, couche de 40 ml) dans du méthanol et on agite le mélange pendant 10 min, la résine étant séparée par filtration et lavée au moyen de méthanol. On soumet le filtrat et les produits de lavage combinés à évaporation pour obtenir une huile, que l'on dissout dans 20 ml de diméthylformamide. On ajoute du Cbz-Gln-ONp (2,0 g, 4,95 mmoles), on règle le pH à 7,5 au moyen de triéthylamine et on laisse séjourner la solution à la température ambiante pendant 1 jour. On concentre la solution à 5 ml (pompe à huile) et on dilue l'huile visqueuse obtenue au moyen de 5 ml de méthanol. L'amide de pentapeptide protégé est précipité par addition de 50 ml d'acétate d'éthyle, recueilli sur un filtre et lavé au moyen de 50 ml d'une solution d'acétate d'éthyle et de méthanol (4/1), puis au moyen de 100 ml d'acétate d'éthyle. Le peptide séché 13 pèse 2,94 g (63%).

$[\alpha]_D^{25}$  -20,2° (c 0,960, diméthylformamide)

TLC :  $R_f^A$ : 0,60;  $R_f^C$ : 0,28;  $R_f^D$ : 0,27

### Exemple 14

Cbz-Gln-Gln-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub> (14)

On dissout l'amide de pentapeptide protégé 13 (1,05 g, 1,12 mmole) dans 14 ml 2,5 n HBr dans de l'acide acétique. Après maintien pendant 1 h à la température ambiante, le sel d'hydrobromure est pré-

precipité au moyen d'éther diéthylique, est séparé par filtration, est lavé sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éther diéthylique et est séché sous vide sur du NaOH. Le précipité est dissous dans 12 ml de diméthylformamide, est refroidi à 0° C, et on ajoute du Cbz-Gln-ONp (0,51 g, 1,25 mmole) et de la triéthylamine (1 ml). Le mélange ayant séjourné pendant 24 h à la température ambiante, le diméthylformamide est soumis à évaporation (pompe à huile), le résidu est dilué au moyen d'éthanol et la matière solide obtenue est filtrée et lavée sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éthanol. Le précipité est séché sur du P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et on obtient 1,04 g (87%) de l'amide d'hexapeptide 14.

Point de fusion : 155 - 160° C

$[\alpha]_D^{25}$  -26,8° (c 0,537, diméthylformamide)

TLC : R<sub>f</sub><sup>A</sup> : 0,45; R<sub>f</sub><sup>D</sup> : 0,10

#### Exemple 15

Mep(SBzl)-Tyr-Phe-Gln-Gln-Cys(SBzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub> (15)

On dissout l'amide d'hexapeptide protégé 14 (400 mg, 0,38 mmole) dans 15 ml 2,3 n HBr dans de l'acide acétique. Après 1 h, le sel d'hydrobromure est précipité au moyen d'éther diéthylique, est recueilli sur un filtre, est lavé sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éther diéthylique et est séché sous vide sur du NaOH. On dissout le sel dans 5 ml de diméthylformamide, on basifie la solution au moyen de triéthylamine (0,5 ml) et on la refroidit à -10° C. Cette solution est ajoutée à une solution à -15° C de l'acide préparé à partir de l'hydrazide 10 (260 mg, 0,50 mmole) in situ avec du nitrite d'isocamyle. On agite la solution de réaction à -15° C pendant 2 h, on règle le pH à 8,0 au moyen de triéthylamine et on maintient la solution de réaction à 4° C pendant 24 h. Le diméthylformamide est retiré (pompe à huile) et le résidu est traité au moyen d'éthanol. Le mélange ayant séjourné pendant une nuit à 43 C, on recueille le précipité sur un filtre, on le lave au moyen de plusieurs parties d'éthanol et d'éther diéthylique et on le sèche pour obtenir 285 mg (53%) du nonapeptide protégé 15.

Point de fusion : 190 - 195° C

$[\alpha]_D^{25}$  -32,8° (c 0,470, acide acétique 95%)

TLC : R<sub>f</sub><sup>A</sup> : 0,51; R<sub>f</sub><sup>B</sup> : 0,80; R<sub>f</sub><sup>E</sup> : 0,93



00017

Exemple 16

(Gln<sup>5</sup>)-désamino-D-Arg<sup>8</sup>-vasopressine

(5-Gln-DDAVP)

(16)

On traite de façon intermittente une solution de l'amide de nonapeptide protégé 15 (175 mg, 0,123 mmole) dans 100 ml de NH<sub>3</sub> à -40° C au moyen de sodium (aspiré dans une pipette à canal fin) jusqu'à ce qu'une couleur bleue subsiste dans la solution après retrait du sodium. La couleur bleue permanente est éliminée après 2 min par addition de 150 mg de chlorure d'ammonium. L'ammonium est retiré dans un faible courant d'azote. On extrait le résidu au moyen de deux parties d'acétate d'éthyle (de 20 ml), on le dissout dans 250 ml d'eau et on règle le pH de la solution à 6,8 au moyen d'acide acétique. L'oxydation est effectuée au pH 6,8 par addition de 2,5 ml 0,1 M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>. Après agitation pendant 10 min, on ajoute à la solution jaune une couche de 50 ml de résine échangeuse d'ions IRA-400 (Ac)<sup>-</sup>, on agite la suspension pendant 10 min et on sépare la résine par filtration. On lave la résine au moyen de plusieurs parties d'eau et on acidifie le filtrat et les produits de lavage combinés au pH 3,9, puis on lyophilise. On dissout 150 mg du produit de lyophilisation dans 10 ml d'acide acétique à 50%, on l'applique à une colonne de 2,5 x 114,5 cm de Sephadex G-15 qui a été équilibré au moyen d'acide acétique à 50%, et on procède à l'élution avec le même solvant à une vitesse d'écoulement de 100 ml/h. On recueille la pointe maximum, détectée à 280 nm, centrée à 220 ml, on la dilue au moyen d'un volume d'eau et on lyophilise pour obtenir 90 mg. Le peptide désalifié est dissous dans 10 ml 0,2 M d'acide acétique, on l'applique à une colonne de 2,5 x 105,0 cm de Sephadex G-15 qui a été équilibré au moyen de 0,2 M d'acide acétique, et on procède à l'élution avec le même solvant à une vitesse d'écoulement de 100 ml/h. Les fractions correspondant à la pointe à 2,63 V<sub>0</sub> sont recueillies et lyophilisées pour donner 62 mg de 16.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -59,9° (c 0,291, acide acétique 1%)

AAA : Tyr, 1,03; Phe, 1,06; Gln, 2,01; Pro, 1,06; Arg, 0,96; Gly, 1,00  
TLC : Rf<sup>A</sup>: 0,14; Rf<sup>B</sup>: 0,48; Rf<sup>E</sup>: 0,51

(17)

Exemple 17

Obz-Asn-Gln-Cys(SBzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

On dissout l'amide de pentapeptide protégé 13 (1,05 g, 1,12 mmole) dans 14 ml 2,5 N HBr dans de l'acide acétique. Après maintien pendant 1 h à la température ambiante, le sel d'hydrobromure est précipi-

8

000117

té au moyen d'éther diéthylique, est séparé par filtration, est lavé sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éther diéthylique et est séché sous vide sur du NaOH. On dissout le précipité dans 12 ml de diméthylformamide, on le refroidit à 0° C et on ajoute du Cbz-Asn-ONp (0,51 g, 1,25 mmole) et de la triéthylamine (1 ml). Le mélange ayant séjourné pendant 24 h à la température ambiante, on soumet le diméthylformamide à évaporation (pompe à huile), on dilue le résidu au moyen d'éthanol et la matière solide ainsi obtenue est séparée par filtration et lavée sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éthanol. On sèche le précipité sur du P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et on obtient 0,87 g (74%) de l'amide d'hexapeptide 17.

Point de fusion : 175 - 180° C

$[\alpha]_D^{25}$  -24,9° (c 0,694, diméthylformamide)

TLC : Rf<sup>A</sup> : 0,45; Rf<sup>D</sup> : 0,10

#### Exemple 18

Mep (SBzl)-Tyr-Phe-Asn-Gln-Cys(SBzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub> (18)

On dissout l'amide d'hexapeptide protégé 17 (400 mg, 0,38 mmole) dans 15 ml 2,3 n HBr dans de l'acide acétique. Après 1 h, le sel d'hydrobromure est précipité dans de l'éther diéthylique, est recueilli sur un filtre, est lavé sur le filtre au moyen de plusieurs parties d'éther diéthylique et est séché sous vide sur du NaOH. Le sel est dissous dans 5 ml de diméthylformamide, la solution est basifiée au moyen de triéthylamine (0,5 ml) et est refroidie à -10° C. Cette solution est ajoutée à une solution à -15° C de l'azide préparé à partir de l'hydrazide 10 (260 mg, 0,50 mmole) in situ avec du nitrite d'isoamyle. On agite la solution de réaction à -15° C pendant 2 h, on règle le pH à 8 au moyen de triéthylamine et on maintient le mélange de réaction à 4° C pendant 24 h. Le diméthylformamide est retiré (pompe à huile) et le résidu est traité au moyen d'éthanol. Le mélange ayant séjourné pendant une nuit à 4° C, on recueille le précipité sur un filtre, on le lave au moyen de plusieurs parties d'éthanol et d'éther diéthylique et on le sèche pour obtenir 185 mg (35%) du nonapeptide protégé 18.

Point de fusion : 210 - 215° C

$[\alpha]_D^{25}$  -28,3° (c 0,530, diméthylformamide)

TLC : Rf<sup>A</sup> : 0,54; Rf<sup>B</sup> : 0,80; Rf<sup>E</sup> : 0,91

050717

Exemple 19

(Asn<sup>4</sup>-Gln<sup>5</sup>)-désamino-D-Arg<sup>8</sup>-vasopressine (4-Asn-5-Gln-DDAVP) (19)

On traite de façon intermittente une solution de l'amide de nonapeptide protégé 18 (100 mg, 0,071 mmole) dans 100 ml de NH<sub>3</sub> à -40° C au moyen de sodium (aspiré dans une pipette à canal fin) jusqu'à ce qu'une couleur bleue subsiste dans la solution lors du retrait du sodium. La couleur bleue permanente est éliminée après 2 min par addition de 140 mg de chlorure d'ammonium. L'ammonium est retiré au moyen d'un faible courant d'azote. On extrait le résidu au moyen de parties de 20 ml d'acétate d'éthyle, on le dissout dans 200 ml d'eau et on règle le pH de la solution à 6,8 au moyen d'acide acétique. L'oxydation est effectuée au pH 6,8 par addition de 1,5 ml 0,1 M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>. Après agitation pendant 10 min, on ajoute une couche de 50 ml de résine échangeuse d'ions IRA-400 (Ac<sup>-</sup>) à la solution jaune, on agite la suspension pendant 10 min et on sépare la résine par filtration. On lave la résine échangeuse d'ions au moyen de plusieurs parties d'eau, et le filtrat et les produits de lavage combinés sont acidifiés au pH 3,9 et lyophilisés. On dissout 70 mg du produit de lyophilisation dans 10 ml d'acide acétique à 50%, on l'applique à une colonne de 2,5 x 114,5 cm de Sephadex G-15 qui a été équilibré au moyen d'acide acétique à 50% et on procède à l'élution avec le même solvant à une vitesse d'écoulement de 100 ml/h. La pointe maximum, détectée à 280 nm, centrée à 245 ml, est recueillie, est diluée au moyen d'un volume d'eau et est lyophilisée pour donner 54 mg. On dissout le peptide désalifié (54 mg) dans 10 ml 0,2 M d'acide acétique, on l'applique à une colonne de 2,5 x 105,0 cm de Sephadex G-15 qui a été équilibré au moyen de 0,2 M d'acide acétique, et on procède à l'élution avec le même solvant à une vitesse d'écoulement de 100 ml/h. Les fractions correspondant à la pointe à 2,84 V<sub>0</sub> sont recueillies et lyophilisées pour donner 30 mg de 19.

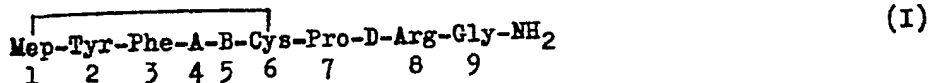
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -54,3 (c 0,287, acide acétique 1%)

AAA : Tyr, 1,07; Phe, 1,11; Gln, 1,03; Pro, 1,03; Arg, 0,99; Gly, 1,00;  
Asp, 0,98

TLC : Rf<sup>A</sup>: 0,18; Rf<sup>B</sup>: 0,48; Rf<sup>E</sup>: 0,53

## REVENDICATIONS.

1. Dérivé de la désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine à effet antidiurétique caractérisé en ce qu'il répond à la formule

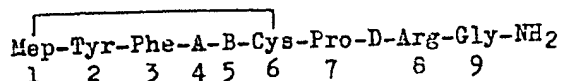


dans laquelle Mep est du 2-mercaptopropionyle et dans laquelle A et B sont de la glutamine (Gln) ou de l'asparagine (Asn), A n'étant de la Gln que si B est de la Gln, à l'exception, toutefois, de ce qui est protégé par le brevet principal belge n° 854.968.

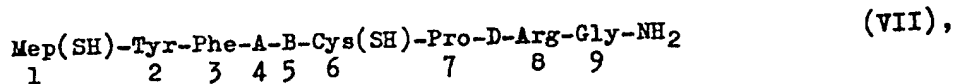
2. Dérivé de la vasopressine suivant la revendication 1, caractérisé en ce que A est de l'Asn et B, de la Gln.

3. Dérivé de la vasopressine suivant la revendication 1, caractérisé en ce que A est de la Gln et B, de la Gln.

4. Procédé de préparation de dérivés de la désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine à effet antidiurétique de la formule (I)



dans laquelle Mep est du 2-mercaptopropionyle et dans laquelle A et B sont de la glutamine (Gln) ou de l'asparagine (Asn), A n'étant de la Gln que si B est de la Gln, à l'exception, toutefois, de ce qui est protégé par le brevet principal belge n° 854.968, ce procédé étant caractérisé en ce qu'on prépare graduellement, de façon connue en soi, la séquence amino-acide



dans laquelle Mep, A et B sont identiques à ce qui a été indiqué plus haut, et en ce qu'on oxyde ensuite cette séquence amino-acide pour former le dérivé de désamino-D-arginine<sup>8</sup>-vasopressine de la formule (I).

5. Procédé suivant la revendication 4, caractérisé en ce qu'on effectue l'oxydation au moyen de ferricyanure de potassium en solution aqueuse au pH de 6,5 - 7.

FERRING AB  
P.P. BUGNION S.A.  
Bruxelles, le 10 novembre 1977

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**